

## Artigo / Article

**LLC: Critérios diagnósticos, imunofenotipagem e diagnóstico diferencial*****CLL: Diagnostic criteria, immunophenotyping and differential diagnosis***

Irene Lorand-Metze

*O diagnóstico da LLC é baseado em dados do hemograma e da imunofenotipagem dos linfócitos periféricos: linfocitose acima de 5 (ou 10) x 10<sup>9</sup>/L com fenótipo CD19, CD5, CD23 e expressão fraca de imunoglobulinas de superfície monoclonais. A expressão de CD38 ocorre em cerca da metade dos casos e tem relação com o estado não mutado de Ig V. A biópsia de medula só deverá ser realizada antes do tratamento ou quando os dois exames acima não permitirem um diagnóstico definitivo. O diagnóstico diferencial é com os outros linfomas B indolentes, que freqüentemente apresentam células neoplásicas circulantes. Este diagnóstico diferencial é baseado na imunofenotipagem, biópsia de medula ou linfonodo. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(4):233-235.*

**Palavras-chave:** Leucemia linfóide crônica; diagnóstico; imunofenotipagem; síndromes linfoproliferativas.

**Introdução**

Segundo a classificação OMS vigente,<sup>1</sup> a LLC é uma neoplasia de linhagem B, periférica. O diagnóstico é feito quando o paciente apresenta linfocitose persistente acima de 10 x 10<sup>9</sup>/L e linfocitose > 40% no mielograma, independente da presença ou não de linfonodomegalia, hepato e/ou esplenomegalia, anemia e/ou plaquetopenia. Raramente pode se apresentar apenas como tumor nodal ou extranodal, sem infiltração medular e linfocitose periférica. O *cut-off* de 5 x 10<sup>9</sup>/L e linfocitose > 30% no mielograma também tem sido largamente usado. Esta discrepância é principalmente devida à ocorrência de linfocitose B monoclonal benigna ou de significado indeterminado (ver capítulo à frente). Em relação a este dado, a LLC também apresenta um contínuo de lesões clonais precoces, estáveis ou com regressão espontânea como é observado nas gamopatias monoclonais e na gastrite pelo *H. pylori* / linfoma MALT. Por isso, e pelo fato de que as LLC de estágio Binet A' (com linfocitose abaixo de 30 x 10<sup>9</sup>/L) não necessitam de tratamento, o *cut-off* usado não é um elemento essencial para o prognóstico do paciente. Na situação de linfocitoses clonais discretas, onde não

encontramos organomegalias, o paciente deverá ser detalhadamente esclarecido sobre o potencial evolutivo desta linfocitose, bem como do impacto deste achado sobre o seu risco (já que pacientes com esta linfocitose têm sobrevida igual à da população geral sem linfocitose).

A morfologia das células neoplásicas é semelhante à de linfócitos normais. Porém, geralmente se encontra até 2% de pró-lymphocytes ou blastos (células maiores com nucléolos e citoplasma mais amplos). Na forma atípica, os pró-lymphocytes podem representar 10%-55%. É comum a ocorrência de restos celulares (manchas de Gumprecht). A presença de células linfóides clivadas sugere o diagnóstico de linfoma folicular.<sup>2</sup> Por outro lado, células com morfologia de células linfoplasmocitárias indicam tratar-se de um linfoma linfoplasmocítico.<sup>3,4</sup> Por esta razão, o diagnóstico de LLC depende da determinação do imunofenótipo dos linfócitos circulantes.

O estudo da medula óssea (citologia e histologia) só é necessário quando se trata de linfocitoses discretas, isoladas, sem quadro clínico inequívoco. A histologia de medula óssea também pode ajudar no diagnóstico diferencial com alguns outros linfomas indolentes leucemizados (Tabela 1).<sup>1</sup>

Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas.

**Endereço para correspondência:** Irene Lorand-Metze

Hemocentro – Unicamp  
Rua Carlos Chagas, 480  
Caixa Postal 6198  
13081-970 – Campinas-SP  
E-mail: [ilmetze@unicamp.br](mailto:ilmetze@unicamp.br)

Tabela 1  
Diagnóstico diferencial da LLC

	Morfologia	CD20	CD5	CD23	slg	Outros marcadores
LLC	< 50% de pró-linfócitos	dim	+	+	dim	CD38+
L. pró-linfocítica	> 50% pró-linfócitos	+/++	+ 30%	—	+ / -	CD79a+
L. cel.-manto		++	+	—	++	Ciclina D1 t(11;14)
L. linfoplasmocítico	Cel. linfo- Plasmocitóides MO: infiltração intersticial, vasos e fibrose	++	+ 5-20%	+ / -	++	CD79b+CD38 +/- Clg +
L. folicular	Cel. clivadas	++	—	+ / -	++	CD10+bcl-2t(14;18)
L. esplênico	MO: infiltração focal com centros germinativos	++	—	—	+	CD79 a +
Tricoleucemia	MO: infiltração intersticial com fibrose	++	—	—	+	CD25, CD103, DBA44 (histo), TRAP

TRAP: fosfatase ácida tartarato-resistente; MO: biópsia de medula

Tem-se atribuído aos achados da biópsia de medula óssea um valor prognóstico, já que uma infiltração focal (central paratrabecular é rara) ou intersticial indica menor massa tumoral. Mas este dado isolado tem valor reduzido quando comparado com os parâmetros prognósticos bioquímicos e moleculares, bem como o estadiamento. Num artigo de revisão da Clínica Mayo<sup>5</sup> se recomenda que o estudo da medula óssea só deve ser feito antes de se iniciar quimioterapia.

### Imunofenotipagem

Juntamente com o quadro clínico e os dados do hemograma, a imunofenotipagem é a principal avaliação diagnóstica e permite o diagnóstico diferencial com as outras síndromes linfoproliferativas.<sup>1</sup>

O painel usado no citômetro de fluxo pode ser de duas ou de três cores. O que é importante, quando a linfocitose está abaixo de  $30 \times 10^9/L$ , é que se adquira pelo menos 10.000 células (ou mais) no gate de linfócitos, para se ter uma análise confiável. É importante também que se lave o *pellet* de leucócitos antes de se agregarem os anticorpos anticadeias leves (ou pesadas) de imunoglobulinas.<sup>6</sup>

Os linfócitos da LLC expressam CD19, CD5, CD23 e, fracamente, imunoglobulinas de superfície com caráter clonal (só cadeia kappa ou só lambda).<sup>1</sup> A expressão de CD79b e CD22 é fraca ou ausente. FMC7 sempre é negativo. Estes achados permitem fazer o diagnóstico diferencial com outros linfomas B leucemizados.

A expressão de CD38 é variável. Em 1999, Damle et al<sup>7</sup> demonstraram que tanto a porcentagem de células CD38+ quanto a intensidade média de fluorescência da expressão deste antígeno tinham forte correlação inversa com a porcentagem de mutações do gene V ( $V_H$  e  $V_L$ ) das imunoglobulinas. De fato, havia dois grupos com expressão signi-

ficativamente diferente e que correspondiam ao tipo não mutado (>30% células CD38+) e o tipo não mutado, embora alguns não mutados tivessem baixa expressão deste antígeno. Estes autores verificaram que o perfil de expressão do CD38 permanece constante ao longo da doença, o que não foi confirmado em outros trabalhos. Dados mais recentes de perfil de expressão gênica demonstram, porém, que se trata de duas formas variantes originárias da mesma célula-tronco, e não de duas doenças como se tem questionado.<sup>8</sup>

Estudando-se concomitantemente os linfócitos T (CD4 e CD8) no sangue periférico, com o intuito inclusive de excluir linfoproliferações T, nota-se que eles frequentemente estão aumentados, especialmente os CD3 / CD8, o que pode expressar um mecanismo de reação do hospedeiro contra o tumor.<sup>9</sup> Nota-se uma correlação inversa, especialmente dos CD3/CD8 com o estágio da doença.

### Diagnóstico diferencial

Os principais diagnósticos diferenciais da LLC estão na tabela 1. Vê-se que, com a morfologia do sangue periférico e um painel pequeno de anticorpos, pode-se facilmente fazer o diagnóstico de LLC. Para confirmar os principais diagnósticos diferenciais, poucos anticorpos a mais são necessários. A histologia de medula óssea é importante para o diagnóstico diferencial apenas do linfoma linfoplasmocítico CD5+. Este exame apresenta também subsídios diagnósticos importantes no linfoma esplênico e da tricoleucemia.

Se o caso ainda permanecer inconclusivo, pode-se realizar exame histológico de linfonodos.

O diagnóstico diferencial mais difícil e controverso é o do linfoma linfoplasmocítico leucemizado. Este tipo de linfoma é razoavelmente freqüente no nosso meio. Acome-

te predominantemente medula óssea e baço. No sangue periférico podemos ter pancitopenia, mas também linfocitose. A morfologia das células neoplásicas circulantes não é diagnóstica por si só. Frequentemente o paciente tem um pico monoclonal de imunoglobulinas (não só IgM), ou anemia hemolítica auto-imune. Num estudo recente, todos os casos foram positivos para CD19, CD20 e CD52 à citometria de fluxo. CD79b foi positivo em 85%, CD23 em 61% dos casos, CD38 em 48% dos casos e apenas 5% apresentaram expressão de CD5.<sup>4</sup> Mas outros autores referem que este antígeno pode ser expresso em até 20% dos casos.<sup>3</sup> A histologia de medula óssea é característica: geralmente intersticial, acompanhado de intensa neoformação de vasos e fibrose.

### Abstract

*The diagnosis of CLL is based on the finding of peripheral lymphocytosis of over  $5$  (or  $10$ )  $\times 10^9/L$  presenting the CD19, CD5, CD23 phenotype and a weak monoclonal expression of membrane immunoglobulins. The CD38 expression is observed in half of the cases and is correlated with the unmutated status of the Ig V gene. Bone marrow biopsy should only be performed before starting treatment or if necessary for the differential diagnosis with other low-grade lymphomas. This differential diagnosis is based on the morphology of circulating lymphocytes, their immunophenotypes and pattern of bone marrow infiltration. Rev. bras. hematol. hemoter. 2005;27(4):233-235.*

**Key words:** Chronic lymphocytic leukemia; diagnosis; phenotype; lymphoproliferative syndromes.

8. Margalit O, Somech R, Amariglio N et al. Microarray-based gene expression profiling of hematologic malignancies: basic concepts and clinical applications. Blood Reviews 2005, 19: 223-234.
9. Oliveira GB, Pereira FG, Metze K, et al. Spontaneous apoptosis in chronic lymphocytic leukemia and its relationship to clinical and cell kinetic parameters. Cytometry 2001; 46: 329-335.

Avaliação: Carlos Sergio Chiattoni

(publicado após acordo do Editor)

Conflito de interesse: Artigo derivado do II Encontro Brasileiro de Consenso da LLC

Recebido: 13/10/2005

Aceito: 30/10/2005

### Referências Bibliográficas

1. Müller-Hermelink HK, Catovsky D, Montserrat E, Harris NL. Chronic lymphocytic leukaemia / small lymphocytic lymphoma - in: WHO Classification of Tumours; Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Eds. IARC Press 2001;127-130.
2. Gonzalez H, Maloum K, Remy F et al. Cleaved lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia: a detailed retrospective analysis of diagnostic features. Leukemia & Lymphoma 2002;43:555-564.
3. Owen RG, Barrans SL, Richards SJ et al. Waldenström macroglobulinemia: development of diagnostic criteria and identification of prognostic factors. Am J Clin Pathol 2001;116:420-428.
4. Konoplev S, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE et al. Immunophenotypic profile of lymphoplasmacytic lymphoma/Waldenström macroglobulinemia. Am J Clin Pathol 2005;124:414-420.
5. Shanafelt TD, Call TG. Current approach to diagnosis and management of chronic lymphocytic leukemia. Mayo Clinic Proceeding 2004; 79: 388-398.
6. Babusikova O, Stevulova L. Analysis of surface and cytoplasmic immunoglobulin light/heavy chains by flow cytometry using a lysed-whole-blood technique: implications for the differential diagnosis of B-cell malignancies. Neoplasma 2004;51:422-430.
7. Damle RN, Wasil T, Fais F et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. Blood 1999;14:1.840-1.847.